

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 B01J 13/02, A61K 9/127	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/11100
		(43) 国際公開日 1994年5月26日 (26.05.94)
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01684 (22) 国際出願日 1993年11月17日 (17. 11. 93)		(81) 指定国 AU, CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(30) 優先権データ 特願平4/308556 1992年11月18日 (18. 11. 92) JP		添付公開書類 国際調査報告書
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 大正製薬株式会社 (TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) (JP/JP) 〒171 東京都豊島区高田3丁目24番1号 Tokyo, (JP)		
(72) 発明者 : および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 中島俊明 (NAKAJIMA, Toshiaki) (JP/JP) 中森 克 (NAKAMORI, Katsu) (JP/JP) 小田原美樹子 (ODAWARA, Mikiko) (JP/JP) 小山郁夫 (KOYAMA, Ikuo) (JP/JP) 根本正美 (NEMOTO, Masami) (JP/JP) 〒171 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内 Tokyo, (JP)		
(74) 代理人 井理士 北川富造 (KITAGAWA, Tomizo) 〒171 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社 特許部内 Tokyo, (JP)		

(54) Title : STABLE AQUEOUS LIPOSOME SUSPENSION

(54) 発明の名称 安定なリポソーム水性懸濁液

(57) Abstract

To provide a stable liposome suspension which does not cause precipitation, coagulation or particle size change and is reduced in the formation of the lyso form. A liposome suspension containing a sugar alcohol and a quaternary ammonium salt.

(57) 要約

目的：40℃の保存でも6ヶ月間、沈殿や凝集、粒子径変化がなく、またリゾ体の生成も少ない安定なリポソーム懸濁液を提供する。

構成：糖アルコール及び第4級アンモニウム塩を配合したリポソーム懸濁液。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT オーストリア	DE ドイツ	KR 大韓民国	PL ポーランド
AU オーストラリア	DK デンマーク	KZ カザフスタン	PT ホルトガル
BB バルバドス	ES スペイン	LJ リヒテンシュタイン	RO ルーマニア
BE ベルギー	FI フィンランド	LK スリランカ	RU ロシア連邦
BF ブルキナファソ	FR フランス	LU ルクセンブルグ	SD スーダン
BG ブルガリア	GA ガボン	LV ラトヴィア	SE スウェーデン
BJ ベナン	GB イギリス	MC モナコ	SI スロヴェニア
BR ブラジル	GE ジョージア	MD モルドバ	SK スロヴァキア共和国
BY ベラルーシ	GN ギニア	MG マダガスカル	SN セネガル
CA カナダ	GR ギリシャ	ML マリ	TD ナイード
CF 中央アフリカ共和国	HU ハンガリー	MN モンゴル	TG トーゴ
CG コンゴ	IE アイルランド	MR モーリタニア	TJ タジキスタン
CH スイス	IT イタリー	MW マラウイ	TT トリニダートバゴ
CI コート・ジボアール	JP 日本	NE ニジェール	UA ウクライナ
CM カメルーン	KE ケニア	NL オランダ	US 米国
CN 中国	KG キルギスタン	NO ノルウェー	UZ ウズベキスタン共和国
CS ナイエコスロバキア	KP 朝鮮民主主義人民共和国	NZ ニュージーランド	VN ヴィエトナム
CZ チェコ共和国			

明細書

安定なリポソーム水性懸濁液

技術分野

本発明はリポソームを懸濁液の状態で保存してもリポソームを安定に保存できる技術に関する。

背景技術

リポソームは脂質二分子膜よりなる閉鎖小胞であり、生体適合性に優れているため、その内水相または膜中に種々の薬物を保持させてドラッグキャリアとして用いる試みが数多くなされている。しかしながらリポソームは懸濁液の状態ではコロイド化学的に不安定な場合が多く、長期間リポソームを懸濁液の状態で保存すると、リポソーム粒子同士の凝集や融合、膜成分の結晶化による沈殿の生成、粒子径の増大などがおこり、リポソームに保持させる薬物の効力の低下やリポソームの外観変化をまねいて商品価値の損失を起こしやすかった。

そのため、リポソームを使用する場合は懸濁液のまま保存する方法ではなく、凍結乾燥等の手段により用時溶解して用いる方法が主流であり、リポソームを懸濁液のまま保存するための安定化技術の検討例は少なかった。

前記検討例の一つとして、多価アルコール及び／または糖類を配合してリポソーム懸濁液を安定化させる方法が報告されている（特開昭64-3114）。

しかしながら、上記技術で解決したのは室温以下の保存温度での安定性の点であり、高温に保存された時の安定性や、溶血性があるといわれているリゾ体の生成抑制の点については不十分であった。

本発明の目的は、40℃の保存でも6ヶ月間、沈殿や凝集、粒子径変化がなく、またリゾ体の生成も少ない安定なリポソーム懸濁液を提供することにある。

発明の開示

本発明者らは鋭意研究した結果、糖アルコール及び第4級アンモニウム塩をリポソーム懸濁液に配合すると、糖アルコールのみあるいは第4級アンモニウム塩のみをリポソーム懸濁液に配合した場合には解決できなかった上記課題を解決できることを見いだし、本発明を完成した。

すなわち、本発明は糖アルコール及び第4級アンモニウム塩を配合したことを

特徴とするリボソーム懸濁液である。

本発明において、糖アルコールとはマンニトール、ソルビトール、キシリトル、マルチトールなどであり、このうちマンニトールが特に好ましい。これら糖アルコールの配合量は製剤全量に対して0.7～7.5重量%であり、好ましくは1.5～4.5重量%である。

また、第4級アンモニウム塩とは塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムなどであり、このうち塩化ベンザルコニウムが好ましい。これら第4級アンモニウム塩の配合量は、リボソームの膜成分（後述）に対して0.05～20モル%、好ましくは2～8モル%である。

また、本発明においては、タウリンを併せて配合するとより優れた効果が得られて好ましい。この場合、前記タウリンの配合量は、0.5～5.0重量%である。

本発明のリボソーム懸濁液は例えば次のようにして調製することができる。すなわちリボソームの膜成分を有機溶媒に溶解し、有機溶媒を留去した後、生成した脂質膜を、糖アルコール及び第4級アンモニウム塩（並びに必要に応じてタウリン）含有水溶液で脂質膜の相転移温度以上で水和すればよいが、特にこの方法に限定されるわけではない。

上記膜成分としては水素添加大豆レシチン、水素添加卵黄レシチン、ジミリストイルフォスファチジルコリン、ジバルミトイルフォスファチジルコリン、ジステアロイルフォスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリンなどを挙げることができる。膜安定化剤は特に必要ないがコレステロール等を入れても構わない。これらの膜成分の使用量は、通常水1重量部に対し0.0005～0.025重量部好ましくは0.001～0.008重量部である。

また、有機溶媒としてはクロロホルム、ジクロルメタンなどを用いることができる。

本発明においてはリボソームの懸濁液のpHを水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等で中性付近（6.0～7.4）に調整することが望ましい。

また、本発明においては必要に応じてポリカーボネート製メンブランフィルム

一や高圧噴射型ホモジナイザーを用いて粒径分布をコントロールしてもよい。

本発明のリボソーム懸濁液には必要に応じて防腐剤（例えばパラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピルなど）、抗ヒスタミン剤（例えば塩酸ジフェンヒドラミン、塩酸イソチベンジル、マレイン酸クロルフェニラミンなど）、ビタミン類（例えばビタミンA及びそのエステル、活性型B₂、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂、ビタミンE及びそのエステルなど）、高分子添加剤（例えばポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）、等強化剤（例えば塩化ナトリウム、塩化カリウムなど）などを本発明の効果を損なわない範囲内で添加してもよい。

本発明のリボソーム懸濁液には薬物を保持させることもできるが、薬物を保持させる場合、保持させる薬物としては特に制限はなく、水溶性薬物の場合は薬物を糖アルコール及び第4級アンモニウム塩含有水溶液に溶解して脂質膜に加え、水和させればよく、油溶性薬物の場合は薬物と膜成分とをクロロホルムなどの溶媒に溶解し、溶媒を留去した後、糖アルコール及び第4級アンモニウム塩含有水溶液で水和すればよい。

本発明のリボソーム懸濁液は、点眼剤、点鼻剤、含嗽洗口剤などの局所投与製剤、皮膚用剤などの経皮投与製剤、懸濁剤などの経口投与製剤、入浴剤、ローションなどの化粧品として用いることができるが、好ましくは点眼剤、点鼻剤である。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例及び試験例を挙げて、本発明を更に詳細に説明する。

実施例1

ジミリストイルフォスファチジルコリン200mgと脂溶性の薬物であるビタミンEアセテート50mgをナスフラスコにとりクロロホルム50mlに溶解した後クロロホルムを充分に留去した。これに水酸化ナトリウムでpHを6.5に調整した4.5%マンニトール水溶液を10ml加え、40～50℃で水和した後、0.2μmのポリカーポネート製メンブランで1回、0.1μmのポリカーポネート製メンブランで1回加圧通過によるサイジングを行った。このうち、5

m l をとり、塩化ベンザルコニウムを最終的に0.005% (W/V) (膜成分に対して5モル%)となるように加え、更にpH 6.5の4.5%マンニトール水溶液を加えて、全量50mlのリポソーム懸濁液を調製した。

実施例 2

膜成分としてジミリストイルフォスファチジルコリン200mgの代わりにジパルミトイルフォスファチジルコリン200mgを用いた他は実施例1と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。ただし、水和液には3.5%マンニトール及び1%タウリンの混合水溶液を用いた。

実施例 3

膜成分としてジミリストイルフォスファチジルコリン200mgの代わりに水素添加大豆レシチン200mgを用いた他は実施例1と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。ただし、水和とサイジングは60~70°Cで行った。

実施例 4

膜成分として水素添加大豆レシチン200mgの代わりに水素添加卵黄レシチン200mgを用いた他は実施例3と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

実施例 5

膜成分として水素添加大豆レシチン200mgの代わりに水素添加大豆レシチン200mg及びコレステロール50mgを用いた他は実施例3と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

実施例 6

4.5%マンニトール水溶液の代わりに3.3%マンニトール水溶液及び1%タウリン水溶液を用いた他は実施例3と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

実施例 7

塩化ベンザルコニウム 0.005% (W/V) の代わりに塩化ベンゼトニウム 0.005% (W/V) を用いた他は実施例 1 と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

実施例 8

4.5% マンニトール水溶液の代わりに 4.5% ソルビトール水溶液を用いた他は実施例 3 と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

対照例 1

実施例 1 において、塩化ベンザルコニウムを添加しなかった他は実施例 1 と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

対照例 2

実施例 1 において、4.5% マンニトール水溶液の代わりに生理食塩水を用いた他は実施例 1 と同様にしてリポソーム懸濁液を調製した。

試験例 1

実施例 1、対照例 1 及び対照例 2 のリポソーム懸濁液をアンプルに入れ 40°C に保存して外観変化を観察し、同時に光散乱法に基づくサブミクロンパーティクルアナライザーにより粒径を測定した。その結果を表 1 に示す。

表 1

保存期間(月)		開始時	1	2	3	6
実施例 1	外観	-	-	-	-	-
	粒径	121	126	130	125	129
対照例 1	外観	-	-	-	+	+
	粒径	131	150	312	687	1096
対照例 2	外観	-	+	+	+	+
	粒径	135	150	210	350	1680

注) - : 凝集、沈殿なし, + : 凝集あり, 粒径の単位は nmで平均値

実施例 1 のリポソーム懸濁液ではリポソームの凝集・沈殿や粒径の変化も認められなかつたが、対照例 1 のリポソーム懸濁液では実施例 1 の場合に比べ、凝集も多く粒径も大きくなつた。

産業上の利用可能性

本発明により、高温保存でも長期間安定で、かつリポソームが加水分解してリゾ体を生じることの少ないリポソーム懸濁液を提供することが可能となつた。

請求の範囲

- (1) 糖アルコール及び第4級アンモニウム塩を配合したリポソーム懸濁液。
- (2) 第4級アンモニウム塩が塩化ベンザルコニウムである請求の範囲(1)記載のリポソーム懸濁液。
- (3) 糖アルコールがマンニトールである請求の範囲(1)記載のリポソーム懸濁液。
- (4) 糖アルコールがマンニトールであり、第4級アンモニウム塩が塩化ベンザルコニウムである請求の範囲(1)記載のリポソーム懸濁液。
- (5) 糖アルコールの配合量が製剤全量に対して0.7~7.5重量%であり、第4級アンモニウム塩の配合量がリポソームの膜成分に対して0.05~20モル%である請求の範囲(1)記載のリポソーム懸濁液。
- (6) 製剤のpHが6.0~7.4である請求の範囲(1)記載のリポソーム懸濁液。
- (7) 糖アルコール、第4級アンモニウム塩及びタウリンを配合したリポソーム懸濁液。
- (8) 糖アルコールがマンニトールであり、第4級アンモニウム塩が塩化ベンザルコニウムである請求の範囲(7)記載のリポソーム懸濁液。
- (9) 糖アルコールの配合量が製剤全量に対して0.7~7.5重量%であり、第4級アンモニウム塩の配合量がリポソームの膜成分に対して0.05~20モル%であり、タウリンの配合量が製剤全量に対して0.5~5.0重量%である請求の範囲(7)記載のリポソーム懸濁液。
- (10) 製剤のpHが6.0~7.4である請求の範囲(7)記載のリポソーム懸濁液。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01684

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ B01J13/02, A61K9/127

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ B01J13/02, A61K9/127

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 60-255141 (Shiseido Co., Ltd.), December 16, 1985 (16. 12. 85), (Family: none)	1-10
A	JP, A, 62-152531 (Daiichi Seiyaku Co., Ltd.), July 7, 1987 (07. 07. 87), Upper right column to lower right column, page 2 upper right column, page 5 to upper left column, page 6	1-10

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

- * Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

February 2, 1994 (02. 02. 94)

Date of mailing of the international search report

February 22, 1994 (22. 02. 94)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP 93/01684

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. CL⁸ B01J13/02 A61K9/127

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. CL⁸ B01J13/02 A61K9/127

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P. A. 60-255141(株式会社 資生堂), 16. 12月. 1985(16. 12. 85)(ファミリーなし)	1-10
A	J P. A. 62-152531(第一製薬株式会社), 7. 7月. 1987(07. 07. 87), 明細書第2頁右上欄-右下欄, 第5頁右上欄-第6頁左上欄 (ファミリーなし)	1-10

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「I」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日

若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献

(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02.02.94

国際調査報告の発送日

22.02.94

名前及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
郵便番号100
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

松田 慎子 ㊞

4 G 6 3 4 5

電話番号 03-3581-1101 内線 3417